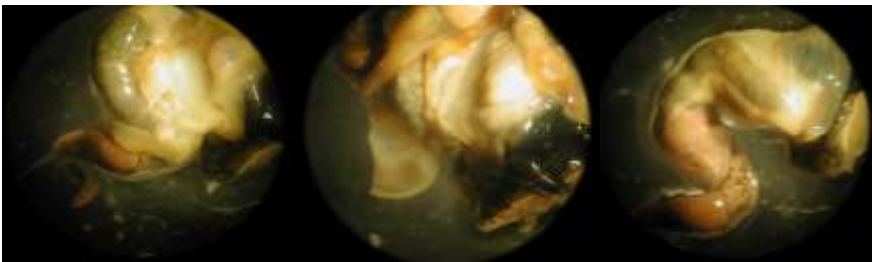


# **TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2014**

M. Hoek-van Nieuwenhuizen, J. Jol en N.H.B.M. Kaag  
Rapportnummer C148/14



## **IMARES** Wageningen UR

(IMARES - Institute for Marine Resources & Ecosystem Studies)

Opdrachtgever:

Rijkswaterstaat CIV  
M. van der Weijden  
Postbus 17, 8200 AA Lelystad

Publicatiedatum:

29 oktober 2014

**IMARES** is:

- Missie Wageningen UR: *To explore the potential of marine nature to improve the quality of life.*
- IMARES is hét Nederlandse instituut voor toegepast marien ecologisch onderzoek met als doel kennis vergaren van en advies geven over duurzaam beheer en gebruik van zee- en kustgebieden.
- IMARES is onafhankelijk en wetenschappelijk toonaangevend.

P.O. Box 68  
1970 AB IJmuiden  
Phone: +31 (0)317 48 09  
00  
Fax: +31 (0)317 48 73  
26  
E-Mail: imares@wur.nl  
www.imares.wur.nl

P.O. Box 77  
4400 AB Yerseke  
Phone: +31 (0)317 48 09 00  
Fax: +31 (0)317 48 73 59  
E-Mail: imares@wur.nl  
www.imares.wur.nl

P.O. Box 57  
1780 AB Den Helder  
Phone: +31 (0)317 48 09 00  
Fax: +31 (0)223 63 06 87  
E-Mail: imares@wur.nl  
www.imares.wur.nl

P.O. Box 167  
1790 AD Den Burg Texel  
Phone: +31 (0)317 48 09 00  
Fax: +31 (0)317 48 73 62  
E-Mail: imares@wur.nl  
www.imares.wur.nl

© 2014 IMARES Wageningen UR

IMARES, onderdeel van Stichting DLO.  
KvK nr. 09098104,  
IMARES BTW nr. NL 8113.83.696.B16.  
Code BIC/SWIFT address: RABONL2U  
IBAN code: NL 73 RABO 0373599285

De Directie van IMARES is niet aansprakelijk voor gevolgschade, noch voor schade welke voortvloeit uit toepassingen van de resultaten van werkzaamheden of andere gegevens verkregen van IMARES; opdrachtgever vrijwaart IMARES van aanspraken van derden in verband met deze toepassing.

Dit rapport is vervaardigd op verzoek van de opdrachtgever hierboven aangegeven en is zijn eigendom. Niets uit dit rapport mag weergegeven en/of gepubliceerd worden, gefotokopieerd of op enige andere manier gebruikt worden zonder schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

A\_4\_3\_1-V14.1

## Inhoudsopgave

|  |    |
|--|----|
| Inhoudsopgave.....   | 3  |
| Samenvatting.....  | 4  |
| 1. Inleiding.....  | 5  |
| 2. Methoden.....   | 6  |
| 2.1 Bemonsteringslocaties.....   | 6  |
| 2.2 Intersex en imposex.....   | 7  |
| 2.3 Chemische analyses.....  | 9  |
| 3. Resultaten.....   | 10 |
| 3.1 Intersex Gewone Alikruiken.....  | 10 |
| 3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....  | 11 |
| 3.3 Organotin gehalten.....  | 11 |
| 4. Discussie en conclusies.....  | 13 |
| 5. Kwaliteitsborging.....  | 15 |
| Referenties.....   | 16 |
| Verantwoording.....  | 18 |
| Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken.....  | 19 |
| Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.....  | 20 |
| Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone alikruiken, Gevlochten<br>Fuikhoorns en Purperslakken 2014 in µg/kg nat gewicht..... | 21 |
| Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen.....   | 22 |
| Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A IMARES).....   | 23 |
| Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid.....  | 24 |

## Samenvatting

Sinds 2005 analyseert IMARES in opdracht van Rijkswaterstaat (RIKZ, later de Waterdienst, heden CIV) het voorkomen van intersex bij de Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen vast te stellen.

Gewone Alikruiken zijn in vergelijking met andere gastropoden echter vrij ongevoelig voor TBT. Net als in 2012 en 2013 zijn in 2014 daarom naast de Gewone Alikruiken ook Gevlochten Fuikhoorns (*Nassarius reticulatus*) en Purperslakken (*Nucella lapillus*) verzameld. De Gevlochten Fuikhoorns zijn verzameld tijdens de schelpdierbemonsteringen die IMARES in opdracht van het Ministerie van EZ uitvoert. Voor de Purperslakken is een aparte bemonstering, speciaal voor dit onderzoek, uitgevoerd. Bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak resulteert TBT in imposex verschijnselen, een gevoeligere parameter dan intersex.

Bij de Gewone Alikruik werden op geen van beide onderzochte locaties (Waddenzee kustzone Oost en West) intersex verschijnselen aangetroffen.

De Gevlochten Fuikhoorns werden bemonsterd op de locaties Haringvliet kustzone en Hollandse kustzone midden, Noord en Zuid. Op alle vier de locaties zijn vrouwtjes met lichte verschijnselen van imposex aangetroffen (stadium 1a). Voor de locatie Hollandse kustzone midden (4 in stadium 1a) resulteerde dit in een VDSI waarde van 0.18 (vergelijkbaar met 2013, nl. 0.19).

Purperslakken werden bemonsterd op de locaties Grevelingen kustzone en op Oosterschelde en Westerschelde kustzone. Op de locatie Westerschelde kustzone werd bij 11 van de 17 onderzochte vrouwtjes imposex geconstateerd (4 in stadium 1b, 3 in stadium 1c, 1 in stadium 2b, 1 in stadium 3b, 1 in stadium 3c en 1 in stadium 4). Dit resulteerde in een VDSI waarde van 1.12. Vorig jaar was de VDSI op deze locatie 0.89. Op de overige twee onderzochte locaties zijn geen vrouwtjes met verschijnselen van imposex aangetroffen.

De gevonden VDSI waarde is op de locatie Westerschelde kustzone iets hoger dan in 2013 en veel hoger dan op de overige gemeten locaties. Op basis van de imposex-resultaten bij de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak, vallen alle onderzochte monsters in OSPAR Assessment Class A (VDSI Purperslak <0,3) of Class A/B (VDSI Gevlochten Fuikhoorn <0.3), behalve voor de locatie Westerschelde kustzone. Voor de locatie Westerschelde kustzone vallen de onderzochte monsters in OSPAR Assessment Class B (VDSI Purperslak 0.3 - < 2.0). Dit komt overeen met de classificering in 2013.

De hoge VDSI voor de locatie Westerschelde kustzone correleert met het hoogst gevonden TBT-gehalte in de onderzochte monsters.

## 1. Inleiding

Sinds 2005 analyseert IMARES het voorkomen van intersex bij Gewone Alikruiken (*Littorina littorea*) die op vaste locaties langs de Nederlandse kust verzameld worden. Het doel van dit onderzoek is effecten van verontreiniging met organotinverbindingen, specifiek tributyltinverbindingen (TBT), vast te stellen. De uitvoering geschiedt volgens het Projectplan chemisch meetnet MWTL 2014; "Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken", auteur M.H. van der Weijden, van 4 juni 2014 (dit projectplan is na de aanvraag van de opdracht verstrekt).

Gewone Alikruiken zijn algengrazers en in vergelijking met andere gastropoden vrij ongevoelig voor TBT. Blootstelling aan TBT kan leiden tot intersex, een afwijking waarbij de vrouwelijke genitaliën vergroeien tot mannelijke genitaliën. Bij roofslakken resulteert blootstelling aan TBT in imposex. Hierbij ontwikkelen de vrouwtjes naast normale vrouwelijke genitaliën, ook mannelijke genitaliën, die uiteindelijk de oviduct (eileider) blokkeren, wat leidt tot steriliteit (en sterfte) (Bauer *et al.*, 1995). Imposex treedt al bij veel lagere TBT-gehalten op dan intersex.

De Purperslak (*Nucella lapillus*) is een van de gevoeligste soorten met betrekking tot TBT. Deze soort komt voor in de Zeeuwse wateren en vertoont voldoende variatie in imposex om een realistisch onderscheid te kunnen maken tussen locaties met betrekking tot de TBT belasting (Kaag & Jol, 2007). Door de beperkte verspreiding is deze soort echter niet geschikt om als indicatorsoort voor de gehele Nederlandse kustzone te dienen.

Een alternatief is de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*). Deze soort wordt sinds enkele jaren regelmatig aangetroffen tijdens de jaarlijkse schelpdiersurveys die IMARES in opdracht van het Ministerie van EZ uitvoert in de Nederlandse wateren. Ook de Gevlochten Fuikhoorn vertoont imposex en is gevoeliger dan de Gewone Alikruik, maar niet zo extreem gevoelig als de Purperslak (Stroben *et al.*, 1992a; Bryan *et al.*, 1993; Oehlmann *et al.*, 1996). Vanaf 2009 zijn daarom niet alleen Gewone Alikruiken verzameld op de standaardlocaties, maar zijn ook op vijf locaties Gevlochten Fuikhoorns verzameld (Kaag *et al.*, 2009). De keuze van de locaties was van te voren alleen globaal bepaald (monding Westerschelde, monding Europoort en voor de kust van Noord-Holland), aangezien niet bekend was waar de aantallen hoog genoeg zouden zijn voor het verzamelen van een voldoende groot monster. Het bemonsteringsplan voor 2010 was geënt op de resultaten van 2009. Tijdens de bemonsteringen in 2011 t/m 2014 is naast de Gewone Alikruik en de Gevlochten Fuikhoorn, tevens de Purperslak als indicatorsoort bemonsterd (Tabellen 2, 3 en 4) en is de Nederlandse kustzone ingedeeld in bemonsteringsgebieden. Hierdoor kunnen binnen een gebied kleine monsters van een soort samengevoegd worden.

## 2. Methoden

### 2.1 Bemonsteringslocaties

Voor de bemonstering van slakken heeft RWS 9 aandachtsgebieden gedefinieerd (Tabel 1). In elk aandachtsgebied wordt 1 monster geanalyseerd.

In de Zeeuwse Delta worden eventueel Purperslakken gezocht langs dijken, indien de aantallen Gevlochten Fuikhoorns, net als in 2010 t/m 2013 te laag zijn.

*Tabel 1 Voorgestelde onderzoeklocaties waar de verschillende geplande indicatorsoorten volgens projectplan 2014 bemonsterd dienen te worden (zie figuur 1 voor de ligging van de betreffende locaties)*

| <b>Gebied</b>             | <b>DONAR-code</b> | <b>Locatie</b>           | <b>Geplande soort</b> |
|---------------------------|-------------------|--------------------------|-----------------------|
| Waddenzee kustzone Oost   | WADDZKZNOT        | Eems-Dollard/Eemshaven   | Gewone Alikruik       |
| Waddenzee kustzone West   | WADDZKZNWT        | Waddenzee-West/Roptazijl | Gewone Alikruik       |
| Hollandse kustzone Noord  | HOLLSKZNND        | Petten/Den Helder        | Gevlochten fuikhoorn  |
| Hollandse kustzone midden | HOLLSKZNMDN       | Monding Noordzeekanaal   | Gevlochten Fuikhoorn  |
| Hollandse kustzone Zuid   | HOLLSKZNZD        | Scheveningen             | Gevlochten Fuikhoorn  |
| Haringvliet kustzone      | HARVKZNE          | Monding Haringvliet      | Gevlochten Fuikhoorn  |
| Grevelingen kustzone      | GREVLGKZNE        | Monding Grevelingen      | Gevlochten Fuikhoorn  |
| Oosterschelde kustzone    | OOSTSDKZNE        | Monding Oosterschelde    | Gevlochten Fuikhoorn  |
| Westerschelde kustzone    | WESTSDKZNE        | Monding Westerschelde    | Gevlochten Fuikhoorn  |

In figuur 1 zijn de onderzoeklocaties met hun bijbehorende DONAR-codes en de geplande indicatorsoorten voor 2014 weergegeven die door de opdrachtgever in het projectplan zijn voorgesteld.

Bij de Gewone Alikruiken wordt de mate van intersex vastgesteld en wordt het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald. Bij de Gevlochten Fuikhoorns en de Purperslakken wordt de mate van imposex vastgesteld en wordt tevens het organotin-gehalte in het weefsel van de dieren bepaald.



Figuur 1 Voorgestelde onderzoeklocaties in 2014 (uit Projectplan 2014).

## 2.2 Intersex en imposex

Gewone Alikruiken werden op 15 juli 2014 verzameld, door handmatig op de dijk te rapen bij laag water, op twee Waddenzee locaties (Tabel 2). Op beide locaties zijn voldoende Gewone Alikruiken geraapt voor de analyse van exact 40 individuen (exact 40 exemplaren is volgens richtlijn OSPAR en Projectplan 2014) op het voorkomen van intersex en chemische analyse van de weefsels op organotin-verbindingen. De verzamelde Gewone Alikruiken zijn dezelfde dag gekoeld (koelbox met voldoende koelementen) naar het laboratorium in Yerseke vervoerd.

De intersex analyse is uitgevoerd conform Jol (2004). Intersex bij Gewone Alikruikken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, waarbij 4 stadia worden onderscheiden, lopend van 0 (geen effect) tot 3 (volledig steriliteit).

De ISI (intersex index) is het gemiddelde intersex stadium van de populatie. De ISI wordt als volgt bepaald:

ISI = som intersex stadia alle vrouwtjes/aantal vrouwtjes

Gevlochten Fuikhoorns werden tussen 1 april en 19 mei 2014 verzameld tijdens de WOT schelpdierbemonstering (Tabel 3). Tijdens deze bemonstering worden de schelpdieren bemonsterd met de IMARES-bodemschaaf in raaien van 150 meter lang. De schaaaf is 15 cm breed, zodat een totale oppervlak van 22,5 m<sup>2</sup> wordt bemonsterd. Exact 40 exemplaren Gevlochten Fuikhoorns werden zo mogelijk nog dezelfde dag aan boord van het schip geanalyseerd.

Omdat in drie onderzoeksgebieden (Zeeuwse Delta) niet voldoende Gevlochten Fuikhoorns aanwezig waren, hetgeen al een aantal jaren het geval is, werden hier Purperslakken verzameld. Purperslakken werden op 24 maart en op 7 en 8 juli 2014 verzameld tijdens een aparte bemonstering speciaal voor dit project (Tabel 4). Purperslakken bevinden zich in het intertijdegebied en worden bij laag water handmatig van de stenen geraapt. Exact 40 exemplaren zijn onderzocht.

De imposex-analyse in beide organismen is uitgevoerd conform Jol (2007). Imposex bij Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken kan in een gradueel systeem geclassificeerd worden, lopend van 0 (geen effect) tot 4 (Gevlochten Fuikhoorn) of 6 (Purperslak). Er zijn geen aanwijzingen dat bij de Gevlochten Fuikhoorn steriliteit optreedt (stadia 5 en 6).

De belangrijkste karakteristiek voor de populatie is de VDSI (Vas Deferens Sequence Index). Dit is het gemiddelde imposex stadium in de populatie. De VDSI wordt als volgt bepaald:

$$VDSI = \frac{\sum(\text{intersex stadia van alle vrouwtjes})}{\text{totale aantal vrouwtjes}}$$

Daarnaast kan ook de Relative Penis Size worden uitgedrukt in een index (RPSI). De RPSI wordt als volgt bepaald:

$$RPSI = \frac{\text{gemiddelde lengte van de penis van alle onderzochte vrouwtjes}^3}{(\text{gemiddelde penislengte van alle mannetjes})^3} \times 100$$

Alle onderzochte dieren zijn voorbehandeld voor de analyse op organotinverbindingen. Deze voorbehandeling bestaat uit het zoveel mogelijk verwijderen van de schaal en operculum, schoonspoelen en invriezen. De ingevroren monsters zijn naar het laboratorium van IMARES in IJmuiden gebracht voor analyse op organotingehalten.



## 2.3 Chemische analyses

Voor elk monster is van de weefsels van alle op intersex en imposex onderzochte slakken een mengmonster gemaakt t.b.v. organotinanalyses.

Onderstaande stoffen zijn geanalyseerd en gerapporteerd als gehalte Sn en kation. In het rapport zullen verder de volgende afkortingen gebruikt worden om de stof aan te duiden.

| Stofnaam     | Afkorting | CAS nummer |
|--------------|-----------|------------|
| Tributyltin  | TBT       | 688-73-3   |
| Dibutyltin   | DBT       | 1002-53-5  |
| Monobutyltin | MBT       | 78763-54-9 |
| Trifenylnin  | TPhT      | 668-34-8   |
| Difenylnin   | DPhT      | 1011-95-6  |
| Monofenylnin | MPhT      | 2406-68-0  |

De volgende analysemethoden zijn toegepast:

### Organotin:

Zes organotinverbindingen worden gerapporteerd (MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT en TPhT) als Sn en als kation. Ionogene organotinverbindingen komen via een schudextractie met methanol, azijnzuur en hexaan beschikbaar voor alkylering. Vervolgens worden de alkyltinverbindingen geëthyleerd met natriumtetraethylboraat. Na een clean-up met aluminiumoxide worden de extracten geanalyseerd met behulp van GC-MS (SIM mode).

De analyse van organotinverbindingen is door de Raad voor Accreditatie opgenomen bij de geaccrediteerde verrichtingen op hun website. De componenten TBT en DBT zijn geaccrediteerd (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 7).

### Droge stof:

Voor de bepaling van het droge stofgehalte wordt het gewogen monster gemengd met een oppervlakte vergrotende stof, vervolgens gedroogd in een stoof (105 °C, 3 uur) en na afkoelen in een exsiccator teruggewogen.

De methode is geaccrediteerd door de Raad voor Accreditatie (testlaboratoriumnummer L097, verrichting nummer 2).

De volgende Interne Standaard Werkvoorschriften (ISW) zijn gebruikt:

|              |  |
|--------------|--|
| Organotin    | ISW 2.10.3.024 "Het bepalen van het gehalte aan Organotinverbindingen in biota en sediment met behulp van GC-MS" |
| Vochtgehalte | ISW 2.10.3.011 "Visserijproducten. Bepaling van het gehalte aan vocht (droogstoofmethode)"                       |

### 3. Resultaten

De resultaten vermeld in dit rapport zijn alleen van toepassing op de geanalyseerde monsters.

In de tabellen 2, 3 en 4 zijn de exacte posities aangegeven waar in 2014 Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken bemonsterd zijn. Deze exacte posities betreffen in sommige gevallen het zwaartepunt van meerdere bemonsterpunten binnen één locatie. Tevens zijn de bemonsterdata, locatienaamen en de bijbehorende DONAR locatiecodes weergegeven.

Tabel 2 Datum van bemonstering Gewone Alikruiken en exacte posities in de monstergebieden

| Datum      | Locatiennaam            | DONAR-code | Coördinaten (WGS84) |           | Coördinaten (format DIA) |           |
|------------|-------------------------|------------|---------------------|-----------|--------------------------|-----------|
|            |                         |            | E                   | N         | X                        | Y         |
| 15/07/2014 | Waddenzee kustzone Oost | WADDZKZNOT | 6°50.00'            | 53°27.28' | 006500000                | 053271680 |
| 15/07/2014 | Waddenzee kustzone West | WADDZKZNWT | 5°26.14'            | 53°12.36' | 005260840                | 053122160 |

Tabel 3 Datum van bemonstering Gevlochten Fuikhoorns en exacte posities in de monstergebieden

| Datum      | Locatiennaam              | DONAR-code  | Coördinaten (WGS84) |           | Coördinaten (format DIA) |           |
|------------|---------------------------|-------------|---------------------|-----------|--------------------------|-----------|
|            |                           |             | E                   | N         | X                        | Y         |
| 01/04/2014 | Hollandse kustzone Noord  | HOLLSKZNND  | 4°33.00'            | 52°42.00' | 004330000                | 052420000 |
| 01/04/2014 | Hollandse kustzone midden | HOLLSKZNMDN | 4°31.00'            | 52°33.00' | 004310000                | 052330000 |
| 07/04/2014 | Hollandse kustzone Zuid   | HOLLSKZNZD  | 4°10.00'            | 52°06.00' | 004100000                | 052060000 |
| 19/05/2014 | Haringvliet kustzone      | HARVKZNE    | 3°51.00'            | 51°56.00' | 003510000                | 051560000 |

Tabel 4 Datum van bemonstering Purperslakken en exacte posities in de monstergebieden

| Datum      | Locatiennaam          | DONAR-code | Coördinaten (WGS84) |           | Coördinaten (format DIA) |           |
|------------|-----------------------|------------|---------------------|-----------|--------------------------|-----------|
|            |                       |            | E                   | N         | X                        | Y         |
| 07/07/2014 | Grevelingen kustzone  | GREVLGKZNE | 3°50.02'            | 51°45.24' | 003500120                | 051451440 |
| 08/07/2014 | Monding Oosterschelde | OOSTSDKZNE | 3°40.36'            | 51°37.24' | 003402160                | 051371440 |
| 24/03/2014 | Monding Westerschelde | WESTSDKZNE | 3°34.55'            | 51°26.22' | 003343300                | 051261320 |

Bij de bemonstering kon aan het schema van het projectplan worden voldaan. Alleen is voor de laatste 3 genoemde locaties van de in het projectplan voorgestelde soort afgeweken (Purperslak i.p.v. Gevlochten Fuikhoorn). Gevlochten Fuikhoorns zijn nl. onvoldoende aangetroffen in de Zeeuwse Delta. Purperslak is weliswaar een gevoeliger soort, maar wordt onvoldoende aangetroffen in de rest van de Nederlandse kustzone om ook daar als indicatorsoort te dienen.

De resultaten van alle 9 afzonderlijke monsters worden zowel in dit rapport als in de DIF t.b.v. ICES gerapporteerd.

#### 3.1 Intersex Gewone Alikruiken

In bijlage 1 zijn de resultaten weergegeven van de intersex analyse in de Gewone Alikruiken.

In 2014 werd geen intersex waargenomen in de geanalyseerde Gewone Alikruiken. Ongeveer de helft van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes (Tabel 5).

Tabel 5. Resultaten intersex analyse 2014

| Locatie                 | Soort           | Aantal vrouwtjes (met intersex) | ISI  |
|-------------------------|-----------------|---------------------------------|------|
| Waddenzee kustzone Oost | Gewone Alikruik | 27 (0)                          | 0.00 |
| Waddenzee kustzone West | Gewone Alikruik | 17 (0)                          | 0.00 |

### 3.2 Imposex Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

Bij de Gevlochten Fuikhoorns werden op alle vier de locaties vrouwtjes met lichte verschijnselen van imposex aangetroffen (stadium 1a). Voor de locatie Hollandse kustzone midden resulteerde dit in een VDSI waarde van 0.18 (vergelijkbaar met 2013, nl. 0.19). Op de andere drie locaties was de VDSI waarde  $\leq 0.05$ . Meer dan de helft van het aantal verzamelde Gevlochten Fuikhoorns betrof vrouwtjes (Tabel 6).

Bij de Purperslak werd op de locaties Grevelingen kustzone en Oosterschelde kustzone geen imposex geconstateerd, terwijl op de locatie Westerschelde kustzone een aanzienlijke mate van imposex werd geconstateerd, resulterend in een VSDI van 1.12 (Tabel ). Op de locatie Westerschelde kustzone werd bij 11 van de 17 onderzochte vrouwtjes imposex geconstateerd (4 in stadium 1b, 3 in stadium 1c, 1 in stadium 2b, 1 in stadium 3b, 1 in stadium 3c en 1 in stadium 4). Ongeveer de helft van de onderzochte exemplaren bestond uit vrouwtjes.

In bijlage 2 zijn de volledige resultaten weergegeven van de imposex analyse van Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken.

Tabel 6 Resultaten imposex analyse 2014

| Locatie                   | Soort                | Aantal vrouwtjes (met imposex) | Aantal (Stadium)                              | VDSI | RPSI     |
|---------------------------|----------------------|--------------------------------|---|------|----------|
| Hollandse kustzone Noord  | Gevlochten Fuikhoorn | 21 (1)                         | 1 (1a)  | 0.05 | 0.000000 |
| Hollandse kustzone midden | Gevlochten Fuikhoorn | 22 (4)                         | 4 (1a)  | 0.18 | 0.000007 |
| Hollandse kustzone Zuid   | Gevlochten Fuikhoorn | 28 (1)                         | 1 (1a)  | 0.04 | 0.000000 |
| Haringvliet kustzone      | Gevlochten Fuikhoorn | 29 (1)                         | 1 (1a)  | 0.03 | 0.000066 |
| Grevelingen kustzone      | Purperslak           | 19 (0)                         |   | 0.00 | 0.000000 |
| Oosterschelde kustzone    | Purperslak           | 24 (0)                         |   | 0.00 | 0.000000 |
| Westerschelde kustzone    | Purperslak           | 17 (11)                        | 4 (1b), 3 (1c), 1 (2b), 1 (3b), 1 (3c), 1 (4) | 1.12 | 0.000800 |

### 3.3 Organotin gehalten

De analyses van de organotinverbindingen en van droge stof zijn in september 2014 uitgevoerd in het laboratorium van IMARES locatie IJmuiden.

Qflex is het kwaliteitskenmerk voor flexibele scoop. De flexibele scoop wordt in dit geval echter als vaste scoop met bijbehorend kwaliteitskenmerk Q toegepast.

Het kwaliteitskenmerk Q mag alleen dan worden toegekend aan een resultaat, indien de geanalyseerde component in de onderzochte matrix onder accreditatie valt en aan alle kwaliteitseisen wordt voldaan, zoals genoemd in het toegepaste Interne Standaard Werkvoorschrift (ISW) voor de betreffende geaccrediteerde verrichting.

Voor de bepaling van de organotinverbindingen voldoen de metingen aan de kwaliteitscriteria, zoals gesteld in het geaccrediteerde werkvoorschrift. Aangezien de metingen van de organotinverbindingen

voldoen aan alle kwaliteitscriteria, zoals genoemd in betreffend ISW, zijn de gerapporteerde gehalten als normale waarden (met kwaliteitswaardecode 0) gerapporteerd. Aangezien alleen de metingen van TBT en DBT onder accreditatie vallen, worden alleen deze resultaten met het kwaliteitskenmerk Q gerapporteerd.

De concentratie TBT kation varieerde van 2.2 µg/kg (Gewone Alikruik, WADDZKZNOT en Gevlochten Fuikhoorn, HARVKZNE) tot 17 µg/kg (Purperslakken, WESTSDKZNE). De volledige resultaten van de analyses aan organotinverbindingen in Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken zijn weergegeven in bijlage 3.

Eind januari 2012 is een Voorstel voor een "Richtlijn van het Europees parlement en de raad" tot wijziging van Richtlijnen 2000/60/EG en 2008/105/EG betreffende prioritaire stoffen op het gebied van het waterbeleid verschenen. In deze richtlijn is TBT weliswaar aangewezen als prioritair gevaarlijke stof, maar er is geen norm voor TBT in biota in deze richtlijn opgenomen.

In bijlage 4.1 zijn de gemeten gehalten in een meegeanalyseerd referentiemateriaal weergegeven. Het betreft het gecertificeerde referentiemateriaal mossel (CRM CE-477).

De door IMARES gemeten gehalten in dit monster worden voor de componenten TBT en MBT binnen de 2s-grenzen van de gecertificeerde waarden teruggevonden en kunnen dus als goed gekwalificeerd worden. De component DBT wordt weliswaar binnen de 2s-grenzen van de kwaliteitscontrolekaart van IMARES terug gevonden, maar valt beneden de onderste 2s-grens van de gecertificeerde waarde. Daarom is de kwalificatie twijfelachtig toegekend. Voor de overige organotin componenten zijn geen gecertificeerde waarden vastgesteld voor dit CRM.

In bijlage 4.2 zijn de resultaten van deelname aan Quasimeme ringonderzoeken weergegeven. De z-scores van ronde 73 voldeden aan het door Quasimeme gestelde criterium, behalve voor de component TBT in monster QSP046BT (z-score 3.3). N.a.v. deze slechte z-score is een heranalyse uitgevoerd in dit monster voor de component TBT, dit leverde een nieuwe z-score van -0.4 op. Quasimeme heeft met ingang van 2013 het tijdschema voor de rondes aangepast. Aangezien deelname aan de eerste ronde van 2014 (ronde 2014, 1) niet in het planningsschema van ons lab paste t.a.v. uit te voeren series analyses, heeft IMARES uit kostentechnisch oogpunt besloten de betreffende monsters met terugwerkende kracht op een later tijdstip, gelijk met de monsters voor deze opdracht, te bepalen. IMARES heeft zelf de z-scores van deze ronde berekend en de resultaten hiervan voldeden alle aan het door Quasimeme gestelde criterium voor alle drie gemeten componenten.

In bijlage 4.3 zijn de rapportagegrenzen van de monsters weergegeven.

De OSPAR richtlijn voor de rapportagegrens voor TBT is 1 µg/kg nat gewicht uitgedrukt als kation en 0.4 µg/kg nat gewicht uitgedrukt als Sn (OSPAR Agreement, 2008-09).

De rapportagegrenzen bij de toegepaste methode worden afgeleid van de laagste gemeten standaard. Vanwege verschillen in ingewogen hoeveelheden worden verschillende rapportagegrenzen gerapporteerd. Een compromis voor de rapportagegrenzen, berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters, is weergegeven in bijlage 4.3. De gerapporteerde rapportagegrenzen (0.09 µg/kg nat gewicht uitgedrukt als kation en 0.04 µg/kg nat gewicht uitgedrukt als Sn) voldoen ruimschoots aan boven gestelde richtlijn voor de rapportagegrenzen voor TBT.

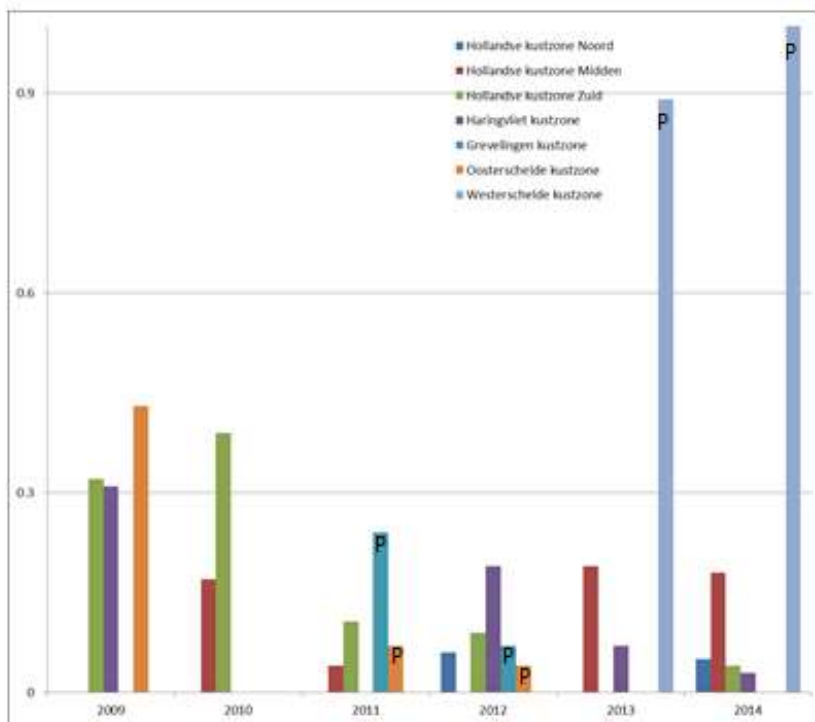
Alle TBT-gehalten liggen ruim boven deze rapportagegrenzen.

#### 4. Discussie en conclusies

Op geen van beide bemonsterde locaties werden intersex-verschijnselen gevonden bij de Gewone Alikruiken. Door hun geringere gevoeligheid vertonen de Gewone Alikruiken geen verschijnselen van intersex.

In 2009 zijn voor het eerst Gevlochten Fuikhoorns verzameld langs de Nederlandse kust. Deze vertoonden in beperkte mate verschijnselen van imposex (Kaag *et al.*, 2009). In 2010 t/m 2014 werden wederom Gevlochten Fuikhoorns verzameld. Ten zuiden van de Nieuwe Waterweg werden echter te weinig Gevlochten Fuikhoorns gevonden. Er is daarom voor gekozen hier Purperslakken te bemonsteren. Om kleinere monsters samen te kunnen voegen tot een groot monster en om de analyse van Purperslakken aan te laten sluiten op die van de Gevlochten Fuikhoorns, zijn in 2011 wat grotere bemonsteringsgebieden vastgesteld. In 2013 zijn hiervan de definitieve begrenzingen met vaste coördinaten voor hoekpunten bekend geworden. Alle 9 te bemonsteren gebieden konden hierdoor in 2013 en 2014 binnen de aangegeven grenzen bemonsterd worden. In 2013 en 2014 konden ook Purperslakken bemonsterd worden in de Westerschelde kustzone. In 2012 waren hier helemaal geen slakken aangetroffen. Hier blijkt nog duidelijk imposex voor te komen.

De resultaten van de afgelopen 6 jaar zijn weergegeven in *Figuur 2*. Verschijnselen van imposex zijn dit jaar op 5 van de 9 bemonsterde gebieden waargenomen. Hierbij moet rekening gehouden worden met het feit dat de mate van imposex die wordt geconstateerd mede afhankelijk is van de onderzochte indicatorsoort.



*Figuur 2. Imposex in Gevlochten Fuikhoorns en Purperslak (P) langs de Nederlandse kust. De lijn bij VDSI 0.3 geeft grenswaarde laagste EAC aan.*

De VDSI van de Gevlochten Fuikhoorns valt in de jaren 2011 t/m 2014 in OSPAR Assessment Class A/B (VDSI <0,3) (OSPAR, 2003; 2004). Dit is beter dan in 2009 en 2010 (Kaag *et al.*, 2009; 2010). Ook de VDSI van de Purperslak (een nog gevoeliger soort) in Grevelingen kustzone en Oosterschelde kustzone vertoont dit beeld. Voor deze soort was de VDSI in de jaren 2011 t/m 2014 <0.3, waarmee de desbetreffende locaties Assessment Class A scores. Door de hoge imposex waarde in 2013 en 2014 valt Westerschelde kustzone echter in Assessment Class B (VDSI purperslak 0.3 - <2.0).

Geconcludeerd kan worden dat in de laatste 4 jaar nauwelijks effecten van TBT gevonden zijn bij slakken in de Nederlandse kustzone, behalve op de locatie Westerschelde kustzone. Dit wordt ondersteund door de lage TBT-gehalten in het vlees van de dieren. Alleen in de dieren uit Westerschelde kustzone waren de gehalten van met name TBT en DBT duidelijk hoger dan op de andere locaties.

## **5. Kwaliteitsborging**

IMARES beschikt over een ISO 9001:2008 gecertificeerd kwaliteitsmanagementsysteem (certificaatnummer: 124296-2012-AQ-NLD-RvA). Dit certificaat is geldig tot 15 december 2015. De organisatie is gecertificeerd sinds 27 februari 2001. De certificering is uitgevoerd door DNV Certification B.V. Daarnaast beschikt het chemisch laboratorium van de afdeling Vis over een NEN-EN-ISO/IEC 17025:2005 accreditatie voor testlaboratoria met nummer L097. Deze accreditatie is geldig tot 1 april 2017 en is voor het eerst verleend op 27 maart 1997; deze accreditatie is verleend door de Raad voor Accreditatie.

Om de kwaliteit van de analyses te garanderen participeert IMARES in de door QUASIMEME georganiseerde ringtesten betreffende de analyse van organotinverbindingen in biota.

Zie bijlage 4 voor de kwaliteitsparameters met betrekking tot de chemische analyses .

Het ringonderzoek voor de bepaling van intersex/imposex is in 2014 niet doorgegaan wegens gebrek aan deelnemers.

## Referenties

- Bauer B., P. Fioroni, I. Ide, S. Liebe, J. Oehlmann, E. Stroben & B. Watermann (1995) TBT effects on the female genital system of *Littorina littorea*: A possible indicator of tributyltin pollution. *Hydrobiologia* 309:15-27.
- Bryan G.W., G.R. Burt, P.E. Gibbs & P.L. Pascoe (1993) *Nassarius reticulatus* (Nassariidae: Gastropoda) as an indicator of tributyltin pollution before and after TBT restrictions. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 73(4):913-929.
- Gibbs P.E., G.W. Bryan, P.L. Pascoe & G.R. Burt (1987) The use of the dogwhelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.* 67:507-523.
- Gibbs P.E. (1999) Biological effects of contaminants: Use of imposex in the dogwhelk (*Nucella lapillus*) as a bioindicator of tributyltin pollution. *ICES Techniques in Marine Environmental Sciences*, No. 24.
- Hoek-van Nieuwenhuizen M. & J. Jol (2011) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2011. IMARES rapport C120/11A.
- Hoek-van Nieuwenhuizen, M. & J. Jol en N.H.B.M. Kaag (2012) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2012. IMARES rapport C112/12.
- Hoek-van Nieuwenhuizen, M. & J. Jol en N.H.B.M. Kaag (2013) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik, de Gevlochten Fuikhoorn en de Purperslak langs de Nederlandse kust in 2013. IMARES rapport C176/13.
- Jol J. (2004) Vaststellen van intersex bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea* L.). RIKZ standaardvoorschrift SPECIE-11.
- Jol J. (2007) Vaststellen van imposex bij de Purperslak (*Nucella lapillus* L.). RIKZ standaardvoorschrift SPECIE-12.
- Kaag N.H.B.M. & J. Jol (2007) Monitoring imposex bij de purperslak, *Nucella lapillus*, in de Zeeuwse wateren. IMARES rapport C112/07.
- Kaag N.H.B.M., J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen (2009) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2009. IMARES rapport C113/09.
- Kaag N.H.B.M., J. Jol & M. Hoek-van Nieuwenhuizen (2010) TBT-gehalten en effecten bij de Gewone Alikruik (*Littorina littorea*) en de Gevlochten Fuikhoorn (*Nassarius reticulatus*) langs de Nederlandse kust in 2010. IMARES rapport C130/10.
- Oehlmann J., E. Stroben, U. Schulte-Oehlmann, B. Bauer, P. Fioroni & B. Markert (1996) Tributyltin biomonitoring using prosobranchs as sentinel organisms. *Fresenius J. Anal. Chem.* 354(5-6):540-545.
- OSPAR (2003) Harmonisation of criteria for the assessment of TBT-specific biological effects. OSPAR MON 03/3/1-E.
- OSPAR (2004) Provisional JAMP Assessment Criteria for TBT - Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2004-15.
- OSPAR (2008) JAMP Guidelines for Contamination Specific Biological Effects. OSPAR Agreement 2008-09.



Standaard voorschrift A646. Analyse van butyltin en phenyltin verbindingen in mosselen, RIKZ, Haren, 1999.

Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992a) *Hinia reticulata* and *Nucella lapillus*. Comparison of two gastropod tributyltin bioindicators. *Mar. Biol.* 114:289-296.

Stroben E., J. Oehlmann & P. Fioroni (1992b) The morphological expression of imposex in *Hinia reticulata* (Gastropoda: Buccinidae): A potential indicator of tributyltin pollution. *Mar. Biol.* 113(4):625-636.

Weijden, M.H. van der (2014). Projectplan chemisch meetnet MWTL 2014. Monitoren van Biologische effecten in mariene slakken, 4 juni 2014, RWS/Waterdienst.

## Verantwoording

Rapport nummer C148/14  
Projectnummer: 4302102707

Dit rapport is met grote zorgvuldigheid tot stand gekomen. De wetenschappelijke kwaliteit is intern getoetst door een collega-onderzoeker en het betreffende afdelingshoofd van IMARES.

De lab coördinator heeft de analyse resultaten gecontroleerd en vrijgegeven:

Akkoord: M. Hoek-van Nieuwenhuizen  
Lab coördinator



Handtekening:

Datum: 29 oktober 2014

Akkoord: Dr. ir. M.J.J. Kotterman  
Projectleider



Handtekening:

Datum: 29 oktober 2014

Akkoord: Drs. J.H.M. Schobben  
Hoofd afdeling Vis



Handtekening:

Datum: 29 oktober 2014

## Bijlage 1. Resultaten intersex analyse Gewone Alikruiken

| Intersex (Alikruiken) |           | Monster soort | Locatie                 | DONARcode  | monster datum | aantal onderzocht | aantal vrouwtjes | gemiddelde penislengte vrouwtjes | gemiddelde penislengte mannetjes | aantal vrouwtjes met intersex | stadium |   |   |   | ISI  |
|-----------------------|-----------|---------------|-------------------------|------------|---------------|-------------------|------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|---------|---|---|---|------|
| RQ-nummer             | LIMSnr.   |               |                         |            |               |                   |                  |                                  |                                  |                               | 0       | 1 | 2 | 3 |      |
| RQ20140716/080        | 2014/2275 | Alikruik      | Waddenzee kustzone oost | WADDZKZNOT | 15 juli 2014  | 40                | 27               | 0.000                            | 1.569                            | 0                             | 0       | 0 | 0 | 0 | 0.00 |
| RQ20140716/081        | 2014/2276 | Alikruik      | Waddenzee kustzone west | WADDZKZNWT | 15 juli 2014  | 40                | 17               | 0.000                            | 2.978                            | 0                             | 0       | 0 | 0 | 0 | 0.00 |

## Bijlage 2. Resultaten imposex analyse Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken

| Imposex (Purperslak en fuikhoorn) |           |               |                           | monster datum | aantal onderzocht | aantal vrouwtjes | gemiddelde penislengte vrouwtjes | gemiddelde penislengte mannetjes | aantal vrouwtjes met imposex | stadium |    |    |    |    |    |    |   | VDSI | RPSI |          |
|-----------------------------------|-----------|---------------|---------------------------|---------------|-------------------|------------------|----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|---------|----|----|----|----|----|----|---|------|------|----------|
| RQ-nummer                         | LIMSnr.   | Monster soort | DONARcode                 |               |                   |                  |                                  |                                  |                              | 0       | 1a | 1b | 1c | 2b | 3b | 3c | 4 |      |      |          |
| RQ20140716/082                    | 2014/2277 | Fuikhoorn     | Haringvliet kustzone      | HARVKZNE      | 19 mei 2014       | 40               | 29                               | 0.103                            | 11.864                       | 1       | 28 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.03 | 0.000066 |
| RQ20140716/083                    | 2014/2278 | Fuikhoorn     | Hollandse kustzone midden | HOLLSKZNMDN   | 1 april 2014      | 40               | 22                               | 0.055                            | 13.028                       | 4       | 18 | 4  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.18 | 0.000007 |
| RQ20140716/084                    | 2014/2279 | Fuikhoorn     | Hollandse kustzone Noord  | HOLLSKZNND    | 1 april 2014      | 40               | 21                               | 0.010                            | 12.026                       | 1       | 20 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.05 | 0.000000 |
| RQ20140716/085                    | 2014/2280 | Fuikhoorn     | Hollandse kustzone Zuid   | HOLLSKZNZD    | 7 april 2014      | 40               | 28                               | 0.014                            | 13.375                       | 1       | 27 | 1  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.04 | 0.000000 |
| RQ20140716/078                    | 2014/2273 | Purperslak    | Grevelingen kustzone      | GREVLGKZNE    | 7 juli 2014       | 40               | 19                               | 0.000                            | 4.243                        | 0       | 19 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.00 | 0.000000 |
| RQ20140716/079                    | 2014/2274 | Purperslak    | Oosterschelde kustzone    | OOSTSDKZNE    | 8 juli 2014       | 40               | 24                               | 0.000                            | 4.225                        | 0       | 24 | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  | 0 | 0    | 0.00 | 0.000000 |
| RQ20140716/077                    | 2014/2272 | Purperslak    | Westerschelde kustzone    | WESTSDKZNE    | 24 maart 2014     | 40               | 17                               | 0.082                            | 4.117                        | 11      | 6  | 0  | 4  | 3  | 1  | 1  | 1 | 1    | 1.12 | 0.000800 |

**Bijlage 3. Gehalten aan organotinverbindingen in Gewone Alikruiken, Gevlochten Fuikhoorns en Purperslakken 2014**  
**in µg/kg nat gewicht**

| RQnummer  | LIMSnr.   | Monster soort        | DONARcode   | Monster-<br>datum | MBT Sn<br>µg/kg | MBT kation<br>µg/kg | DBT Sn<br>µg/kg | DBT kation<br>µg/kg | TBT Sn<br>µg/kg | TBT kation<br>µg/kg | MPhT Sn<br>µg/kg | MPhT kation<br>µg/kg | DPhT Sn<br>µg/kg | DPhT kation<br>µg/kg | TPhT Sn<br>µg/kg | TPhT kation<br>µg/kg | droge stof<br>% |      |
|---|-----------|----------------------|-------------|-------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|-----------------|---------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|------------------|----------------------|-----------------|------|
| RQ20140716/077  | 2014/2272 | Purperslak           | WESTSDKZNE  | 24 mrt 2014       | 1.1             | 1.7                 | Q               | Q                   | 6.9             | 17                  | <0.08            | <0.1                 | <0.07            | <0.2                 | <0.06            | <0.2                 | Q               | 25.7 |
| RQ20140716/078  | 2014/2273 | Purperslak           | GREVLGKZNE  | 7 juli 2014       | <0.1            | <0.2                | <0.1            | <0.3                | 1.8             | 4.4                 | <0.1             | <0.2                 | <0.1             | <0.3                 | <0.1             | <0.3                 |                 | 28.5 |
| RQ20140716/079  | 2014/2274 | Purperslak           | OOSTSDKZNE  | 8 juli 2014       | <0.2            | <0.3                | <0.2            | <0.4                | 1.1             | 2.7                 | <0.2             | <0.3                 | 0.2              | 0.4                  | 0.5              | 1.7                  |                 | 31.1 |
| RQ20140716/080  | 2014/2275 | Gewone Alikruik      | WADDZKZNOT  | 15 juli 2014      | 1.4             | 2.1                 | 0.7             | 1.4                 | 0.9             | 2.2                 | <0.1             | <0.2                 | <0.1             | <0.2                 | <0.09            | <0.3                 |                 | 20.5 |
| RQ20140716/081  | 2014/2276 | Gewone Alikruik      | WADDZKZNWT  | 15 juli 2014      | 1.2             | 1.8                 | 0.5             | 1.0                 | 1.1             | 2.6                 | <0.1             | <0.2                 | <0.1             | <0.2                 | <0.08            | <0.3                 |                 | 22.3 |
| RQ20140716/082  | 2014/2277 | Gevlochten Fuikhoorn | HARVKZNE    | 19 mei 2014       | 0.6             | 0.9                 | 0.6             | 1.2                 | 0.9             | 2.2                 | <0.04            | <0.07                | <0.04            | <0.08                | <0.03            | <0.1                 |                 | 23.7 |
| RQ20140716/083  | 2014/2278 | Gevlochten Fuikhoorn | HOLLSKZNMDN | 1 april 2014      | 0.9             | 1.4                 | 0.6             | 1.1                 | 2.4             | 5.8                 | <0.1             | <0.2                 | <0.09            | <0.2                 | <0.07            | <0.2                 |                 | 23.4 |
| RQ20140716/084  | 2014/2279 | Gevlochten Fuikhoorn | HOLLSKZNND  | 1 april 2014      | 0.9             | 1.4                 | 1.1             | 2.2                 | 1.1             | 2.7                 | <0.1             | <0.2                 | <0.09            | <0.2                 | <0.08            | <0.2                 |                 | 26.6 |
| RQ20140716/085  | 2014/2280 | Gevlochten Fuikhoorn | HOLLSKZNZD  | 7 april 2014      | 1.5             | 2.3                 | 0.7             | 1.5                 | 2.3             | 5.7                 | <0.09            | <0.2                 | <0.08            | <0.2                 | 0.3              | 1.0                  |                 | 24.1 |
| Q is geaccrediteerd onder ISO 17025   |           |                      |             |                   |                 |                     |                 |                     |                 |                     |                  |                      |                  |                      |                  |                      |                 |      |
| Alle gehalten zijn met kwaliteitswaardecode 0 (normale waarde) gerapporteerd in DONAR |           |                      |             |                   |                 |                     |                 |                     |                 |                     |                  |                      |                  |                      |                  |                      |                 |      |

## Bijlage 4.1 Resultaten referentiematerialen

| Component      | Referentiemateriaal          | IMARES-waarde  | n       | IMARES-waarde  | n      | ng/dg | gecertificeerde waarde | eenheid | kwalificatie  |
|----------------|------------------------------|----------------|---------|----------------|--------|-------|------------------------|---------|---------------|
|                |                              | in 2014        | in 2014 | QC-kaart       | totaal |       |                        |         |               |
| TBT als kation | CRM CE477 (mossel)           | 2177.4 ± 428.7 | 2       | 2168.7 ± 433.4 | 27     | dg    | 2200 ± 190             | µg/kg   | goed          |
| DBT als kation | CRM CE477 (mossel)           | 1230.5 ± 164.9 | 2       | 1476.8 ± 316.8 | 27     | dg    | 1540 ± 120             | µg/kg   | twijfelachtig |
| MBT als kation | CRM CE477 (mossel)           | 1404.0 ± 418.5 | 2       | 1510.5 ± 415.3 | 27     | dg    | geen                   | µg/kg   | goed          |
| Vocht          | haring/makreel IRM 2005/0775 | 69.90 ± 0.41   | 23      | 70.00 ± 0.52   | 202    | ng    | n.v.t.                 | %       | goed          |

## Bijlage 4.2 Resultaten ringonderzoek Quasimeme in biota (labcode: Q127A

### IMARES)

| Exercise | Group | Round  | Period             | Matrix   | Determinand | Mean   | Units | Z-score | Qualification  | Comment           |
|----------|-------|--------|--------------------|----------|-------------|--------|-------|---------|----------------|-------------------|
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | TBT         | 12.17  | µg/kg | 3.3     | Unsatisfactory | hermeting Z= -0.4 |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | DBT         | 3.670  | µg/kg | 0.9     | Satisfactory   |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | MBT         | 5.970  | µg/kg | -0.6    | Satisfactory   |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | TPT         | 0.130  | µg/kg |         | Blanc          |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | DPT         | <0.100 | µg/kg |         | Blanc          |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP046BT | MPT         | <0.200 | µg/kg |         | Blanc          |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP047BT | TBT         | 5.820  | µg/kg | 2.8     | Questionable   | hermeting Z= 0.5  |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP047BT | DBT         | 2.330  | µg/kg | 0.8     | Satisfactory   |                   |
| 1032     | BT8   | 73     | okt 2013-feb 2014  | QSP047BT | MBT         | 0.710  | µg/kg | -0.3    | Satisfactory   |                   |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 337      | TBT         | 9.51   | µg/kg | 0.6     | Satisfactory   | niet ingediend    |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 336      | TBT         | 10.8   | µg/kg | 1.8     | Satisfactory   | niet ingediend    |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 337      | DBT         | 0.36   | µg/kg |         | Blanc          | niet ingediend    |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 336      | DBT         | 10.5   | µg/kg | -1.0    | Satisfactory   | niet ingediend    |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 337      | MBT         | 0.94   | µg/kg | 0.5     | Satisfactory   | niet ingediend    |
|          | BT8   | 2014,1 | apr 2014-juli 2014 | 336      | MBT         | 4.77   | µg/kg | -1.1    | Satisfactory   | niet ingediend    |

De resultaten in bovenstaande tabel waarbij niet ingediend staat aangegeven hebben wij vanwege logistieke redenen op een later tijdstip bepaald en zelf de Z-scores berekend (zie ook paragraaf 3.3). Deze resultaten zijn dus niet gerapporteerd aan Quasimeme.

Indien een z-score de kwalificatie 'unsatisfactory' heeft gekregen wordt daarop, vastgelegd in ons kwaliteitssysteem, adequaat actie ondernomen. De betekenissen van de kwalificaties, zoals door Quasimeme toegekend, zijn als volgt:

Satisfactory:  $|Z| < 2$ , resultaat voldoet

Unsatisfactory:  $|Z| > 3$ , resultaat voldoet niet (adequate actie vereist)

Questionable:  $|Z| < 3$ , resultaat is twijfelachtig (geen actie vereist)

Consistent: er is een waarde (x) < rapportagegrens door het deelnemend lab gerapporteerd, deze waarde was in overeenstemming met de assigned value (consensus waarde), bv. < 0.03 gerapporteerd, terwijl assigned value 0.02 is

Inconsistent: er is een waarde (x) < rapportagegrens door het deelnemend lab gerapporteerd, deze waarde was niet in overeenstemming met de assigned value (consensus waarde), bv. < 0.03 gerapporteerd, terwijl assigned value 0.06 is

Blanc: geen z-score bepaald door Quasimeme (mogelijke oorzaken: te weinig laboratoria hebben resultaten gerapporteerd of de spreiding van de resultaten tussen de laboratoria onderling was te groot)

### Bijlage 4.3 Rapportagegrenzen en meetonzekerheid

| Component  | rapportage- | detectie- | unit             | ng/dg | $v_c$                         | n  | $d_c$ |
|--|-------------|-----------|------------------|-------|-------------------------------|----|-------|
|  | grens       | limiet    |                  |       | rel. standard uncertainty (%) |    |       |
| TBT als Sn   | 0.04        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | 13.7                          | 3  | 0     |
| DBT als Sn   | 0.04        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | 18.6                          | 9  | 0     |
| MBT als Sn   | 0.05        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | nog niet vastgesteld, n<8     | 1  |       |
| TPhT als Sn  | 0.03        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| DPhT als Sn  | 0.04        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| MPhT als Sn  | 0.04        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| TBT als kation   | 0.09        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | 13.7                          | 3  | 0     |
| DBT als kation   | 0.09        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | 18.6                          | 9  | 0     |
| MBT als kation   | 0.07        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | nog niet vastgesteld, n<8     | 1  |       |
| TPhT als kation  | 0.1         |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| DPhT als kation  | 0.08        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| MPhT als kation  | 0.07        |           | $\mu\text{g/kg}$ | ng    | niet vastgesteld              |    |       |
| droge stof   | 1           | 0.5       | %                | ng    | 1.98                          | 16 | 0     |
| op basis van juistheidsbepaling en monsterinhomogeniteit                               |             |           |                  |       |                               |    |       |
| verwaarloosbaar klein  |             |           |                  |       |                               |    |       |
| n = aantal ringonderzoeken aan de hand waarvan een Z-score bepaald kon worden          |             |           |                  |       |                               |    |       |
| $d_c$ is de combined constant error in de eenheid van de concentratie van de component |             |           |                  |       |                               |    |       |
| De rapportagegrens is berekend aan de hand van de gemiddelde inweeg van de monsters    |             |           |                  |       |                               |    |       |

De RMS (root mean square) wordt berekend volgens NEN 7779 als basis voor de gecombineerde meetonzekerheid (standard uncertainty) uit de resultaten van verschillende ringonderzoeken (verschillende matrices) van meerdere rondes ( $n > 8$ ). De relatieve uitgebreide meetonzekerheid (expanded uncertainty) is gedefinieerd als twee maal de relatieve standard uncertainty. De relatieve standard uncertainty is weergegeven in bijlage 4.3. Hierin zijn de reproduceerbaarheid, de tussenmonster-spreiding en de methode juistheid verwerkt. Eventuele inhomogeniteit van het monster is hier niet in verwerkt, maar is bij ringonderzoekmonsters niet van toepassing.

Voor de rapportage aan OSPAR dient bij iedere meetwaarde de expanded uncertainty (95% betrouwbaarheidsinterval) berekend te worden. De expanded uncertainty is gedefinieerd als tweemaal de standaard deviatie. Voor OSPAR dient dus een absolute meetonzekerheid gerapporteerd te worden. De berekening van de absolute expanded uncertainty is gebaseerd op onderstaande formules uit de OSPAR guideline voor de bepaling van de meetonzekerheid. De relative standard uncertainty (uitgedrukt in %) wordt door IMARES als maat voor de  $v_c$  gehanteerd. In bijlage 4.3 zijn zowel de relative standard uncertainty ( $=v_c$ ) als de constant error ( $=d_c$ ) opgenomen. Beide dienen als input in de formules voor de berekening van de absolute expanded uncertainty.

Formules uit de OSPAR guideline:

$$s_c = \sqrt{d_c^2 + \left(\frac{v_c}{100}\right)^2 C^2}$$

waarin:

$s_c$  = standard deviation (eenheid = eenheid van concentratie component)

$d_c$  = "combined constant error" (eenheid = eenheid van concentratie component)



$v_c$  = variatie coëfficiënt (eenheid= percentage)

$C$  = concentratie van de component in het monster (meetwaarde)

$$U_C = 2s_C$$

waarin:

$U_c$  = (absolute) expanded uncertainty (eenheid = eenheid van concentratie component)

Voor componenten waarvoor geen deelname plaatsvindt aan ringonderzoeken is, indien mogelijk, de meetonzekerheid vastgesteld op basis van juistheidsbepaling en monsterinhomogeniteit. Voor componenten waarvoor zowel geen ringonderzoeken als geen referentiematerialen voorhanden zijn, kan de meetonzekerheid niet worden vastgesteld. Voor componenten waarvoor het aantal deelgenomen rondes aan ringonderzoeken minder bedraagt dan 8, kan nog geen meetonzekerheid worden vastgesteld volgens NEN 7779.